

## ВПЛИВ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ (*SILYBUM MARIANUM*) НА СТАН Т- І В-КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ТА ПРИРОДНУ РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДВОЛІТОК КОРОПА

**М. З. Коріляк**, [stasiv8@gmail.com](mailto:stasiv8@gmail.com), Інститут рибного господарства НААН, м. Київ  
**О. І. Віщур**, [vishchur\\_oleg@ukr.net](mailto:vishchur_oleg@ukr.net), Інститут біології тварин НААН, м. Львів  
**І. І. Грициняк**, [info@if.org.ua](mailto:info@if.org.ua), Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

**Мета.** Дослідити вплив введення до складу основного раціону дволіток коропа різної кількості насіння розторопші плямистої (*Silybum marianum*) на стан Т- і В-клітинного імунітету та показники природної резистентності їхнього організму.

**Методика.** Експериментальна частина роботи виконана на базі ДП «ДГ Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН України». Дослідження проведено на трьох групах дволіток любінського лускатого коропа, яких вирощували в умовах ставів-аналогів упродовж 60 днів вегетаційного періоду. Матеріалом для досліджень слугувала кров риб, яку відбирали у кінці експерименту. У стабілізованій гепарином крові визначали кількість Т- і В-лімфоцитів та їхню функціональну активність методом розеткоутворення. Показники фагоцитозу гранулоцитів крові оцінювали за фагоцитарною активністю (ФА), фагоцитарним числом (ФЧ) та фагоцитарним індексом (ФІ). Лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) визначали за реакцією на мікробну тест-культуру *Micrococcus lysodeikticus* фотонейлометричним методом. При визначенні бактерицидної активності сироватки крові в якості тест-мікроба використовували *Aeromonas hydrophila*.

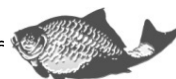
**Результати.** В результаті додавання до раціону дволіток коропа насіння розторопші плямистої у кількості 5% встановлено зменшення кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) та імуносупресивний вплив на їхню функціональну активність за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імункомпетентних клітин. Зокрема, зафіксовано збільшення кількості неактивних у функціональному сенсі Т-лімфоцитів крові і зменшення частки клітин з середньою і високою щільністю рецепторів. Водночас, за умов застосування даної рослинної добавки у кількості 1% у крові коропів виявлено тенденцію до збільшення кількості вказаних популяцій Т-лімфоцитів крові і підвищення їх функціональної активності. При цьому у коропів обох дослідних груп, відносно контрольної, зросла кількість високоавідних В-лімфоцитів крові ( $p < 0,05$ ). Ці дані свідчать про дозозалежний вплив насіння розторопші плямистої на стан Т- і В-клітинної ланки специфічного захисту організму коропів.

Констатовано стимулювальний вплив досліджуваної добавки на активність клітинної і гуморальної ланки природної резистентності організму дволіток коропа, про що свідчать вірогідно вища бактерицидна, лізоцимна та фагоцитарна активність у крові коропів дослідних груп щодо контрольної. Водночас, цей вплив був виражений більшою мірою у коропів, яким до складу основного раціону вводили розторопшу плямисту у кількості 1%.

**Наукова новизна.** Вперше досліджено вплив розторопші плямистої на активність Т- і В-клітинної ланки імунітету та показники неспецифічної резистентності організму дволіток коропа.

**Практична значимість.** Введення розторопші плямистої до складу кормів в процесі товарного вирощування коропа дозволить підвищити природну резистентність їхнього організму.

**Ключові слова:** дволітки коропа, розторопша плямиста, Т- і В-лімфоцити, лізоцимна, бактерицидна та фагоцитарна активності, резистентність.



THE EFFECT OF MILK THISTLE (*SILYBUM MARIANUM*) ON THE STATE  
OF T- AND B-CELL IMMUNITY AND NATURAL RESISTANCE  
OF THE IMMUNE SYSTEM OF AGE-2 CARP

**M. Korylak**, [stasiv8@gmail.com](mailto:stasiv8@gmail.com), Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

**O. Vishchur**, [vishchur\\_oleg@ukr.net](mailto:vishchur_oleg@ukr.net), Institute of Animal Biology NAAS, Lviv

**I. Hrytsyniak**, [info@if.org.ua](mailto:info@if.org.ua), Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

**Purpose.** To investigate the effect of the supplementation of the basic diet of age-2 carp with different amounts of milk thistle (*Silybum marianum*) seeds on the state of T- and B-cell immunity and indicators of the natural resistance of their organism.

**Methodology.** The experimental part of the work was performed at the Lviv Research Station of the Institute of Fisheries NAAS. The study was conducted using three groups of age-2 Lubin scaly carp, which were reared under conditions of analogue ponds for 60 days of the culture season. The material for the study was fish blood, which was sampled at the end of the experiment. The numbers of T- and B-lymphocytes and their functional activity in the heparin-stabilized blood were determined using the rosette test. Phagocytosis parameters of granulocytes were evaluated by phagocytic activity (FA), phagocytic number (FN) and phagocytic index (FI). Lysozyme activity of serum (LAS) was determined by the response to the microbic test culture of *Micrococcus lysodeikticus* using the photonephelometric method. When determining the bactericidal activity of blood serum, *Aeromonas hydrophila* was used as a test microbe.

**Findings.** The supplementation of the diet of age-2 carp with milk thistle seeds at an amount of 5% resulted in a decrease in the number of T-lymphocytes (common, active and theophylline-resistant) and caused immunosuppressive effects on their functional activity due to the redistribution of the receptor apparatus of immunocompetent cells. In particular, an increase in the number of functionally inactive T-lymphocytes and reduction of the proportion of cells with medium and high density of receptors were observed. At the same time, when using this plant supplement at an amount of 1% in the blood of carp, a tendency to an increase in the number of these populations of T-lymphocytes and an increase in their functional activity were observed. At the same time, carp of both experimental groups, compared to the control, had the number of high-grade B-lymphocytes increased ( $p < 0.05$ ). These data indicate the dose-dependent effect of the milk thistle supplement on the state of the T- and B-cell system of the specific protection of the fish body.

The stimulatory effect of the studied supplement on the activity of the cellular and humoral components of age-2 carp resistance was found. This was evidenced by higher bactericidal, lysozyme and phagocytic activities in the blood of experimental groups compared to the control. This effect was expressed to a greater extent in carp, the basic diet of which was supplemented with 1% of milk thistle.

**Originality.** For the first time, the effect of milk thistle on the activity of T- and B-cell immunity and non-specific resistance of the body of age-2 carp have been investigated.

**Practical value.** Supplementation of the carp feeds with milk thistle in the process of commercial carp rearing allows increasing the natural resistance of their organism.

**Key words:** age-2 carp, milk thistle, T- and B-lymphocytes, lysozyme, bactericidal and phagocytic activity, resistance.

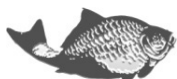
---

ВЛИЯНИЕ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (*SILYBUM MARIANUM*)  
НА СОСТОЯНИЕ Т- И В-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА И ЕСТЕСТВЕННУЮ  
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ДВУХЛЕТКОВ КАРПА

**М. З. Кориляк**, [stasiv8@gmail.com](mailto:stasiv8@gmail.com), Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

**О. И. Вищур**, [vishchur\\_oleg@ukr.net](mailto:vishchur_oleg@ukr.net), Институт биологии животных НААН, г. Львов

**И. И. Грициняк**, [info@if.org.ua](mailto:info@if.org.ua), Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев



**Цель.** Исследовать влияние введения в состав основного рациона двухлетков карпа разного количества семян расторопши пятнистой (*Silybum marianum*) на состояние Т- и В-клеточного иммунитета и показатели естественной резистентности организма рыб.

**Методика.** Экспериментальная часть работы выполнена на базе ГП «ОХ Львовской опытной станции Института рыбного хозяйства НААН Украины». Исследование проведено на трех группах двухлетков любеньского чешуйчатого карпа, выращиваемых в условиях прудов-аналогов течение 60-дневного вегетационного периода. Материалом для исследований выступала кровь рыб, которую отбирали в конце эксперимента. В стабилизированной гепарином крови определяли количество Т- и В-лимфоцитов и их функциональную активность методом розеткообразования. Показатели фагоцитоза гранулоцитов крови оценивали по фагоцитарной активности (ФА), фагоцитарному числу (ФЧ) и фагоцитарному индексу (ФИ). Лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) определяли по реакции на микробную тест-культуру *Micrococcus lysodeikticus* фотонейфелометрическим методом. При определении бактерицидной активности сыворотки крови в качестве тест-микроба использовали *Aeromonas hydrophila*.

**Результаты.** В результате добавления в рацион двухлетков карпа семян расторопши пятнистой в количестве 5% установлено уменьшение количества Т-лимфоцитов (общих, активных и теофиллин-резистентных) и иммуносупрессивное влияние на их функциональную активность за счет перераспределения рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток. В частности, зафиксировано увеличение количества неактивных в функциональном отношении Т-лимфоцитов крови и уменьшение доли клеток со средней и высокой плотностью рецепторов. В то же время, в условиях применения данной растительной добавки в количестве 1% в крови карпов выявлена тенденция к увеличению количества указанных популяций Т-лимфоцитов крови и повышение их функциональной активности. При этом у карпов обеих экспериментальных групп, относительно контрольной, возросло количество высокоавидных В-лимфоцитов крови ( $p < 0,05$ ). Эти данные свидетельствуют о дозозависимом влиянии семян расторопши пятнистой на состояние Т- и В-клеточного звеньев специфической защиты организма карпов.

Констатировано стимулирующее влияние исследуемой добавки на активность клеточного и гуморального звеньев естественной резистентности организма двухлетков карпа. Об этом свидетельствуют достоверно более высокая бактерицидная, лизоцимная и фагоцитарная активность в крови карпов экспериментальных групп относительно контрольной. Одновременно, это влияние было выражено в большей степени у карпов, которым в состав основного рациона вводили расторопшу пятнистую в количестве 1%.

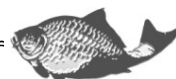
**Научная новизна.** Впервые исследовано влияние расторопши пятнистой на активность Т- и В-клеточного звеньев иммунитета и показатели неспецифической резистентности организма двухлетков карпа.

**Практическая значимость.** Введение расторопши пятнистой в состав кормов в процессе товарного выращивания карпа позволит повысить естественную резистентность их организма.

**Ключевые слова:** двухлетки карпа, расторопша пятнистая, Т- и В-лимфоциты, лизоцимная, бактерицидная и фагоцитарная активности, резистентность.

## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Основним завданням при товарному вирощуванні коропа є досягнення високих показників продуктивності та якості отриманої продукції. Ефективність вирощування коропа залежить від низки чинників, зокрема: технологічних аспектів, обґрунтованого балансування та нормування раціону, генетичного потенціалу організму тощо. В процесі вирощування рибної продукції практично



неможливо забезпечити оптимальні умови утримання в ставах упродовж усього вегетаційного періоду, адже на водне середовище безпосередньо діє низка чинників екзогенного походження, які негативно впливають на функціональний стан організму риб [1, 2].

Відомо, що імунна система риб здійснює захист внутрішнього середовища від впливу чужорідних антигенів і є досить чутливим показником стану як самого організму, так і середовища існування [3, 4]. Саме тому важливим є пошук засобів та способів забезпечення належного рівня резистентності організму риб. Розрізняють неспецифічну резистентність організму, тобто стійкість до будь-яких патогенних чинників, незалежно від їхньої природи, і специфічну — зазвичай до певного конкретного агента [5]. Специфічна резистентність організму риб забезпечується реакціями імунітету, і значною мірою залежить від умов середовища існування [6, 7].

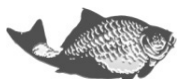
З метою попередження захворювань і підвищення інтенсивності росту риб у рибництві успішно використовують добавки та препарати рослинного походження, для яких характерні: широкий спектр дії, високий вміст біологічно активних речовин, низька токсичність і відсутність негативного впливу на організм за умов тривалого їх застосування [8, 9].

### **ВИДІЛЕННЯ НЕВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ**

З огляду на вищевказане, перспективним є дослідження ефективності застосування розторопші плямистої (*Silybum marianum*) у складі раціону при вирощуванні коропа. Відомо, що насіння розторопші містить близько 200 різних за дією компонентів. Біологічно активні речовини, що містяться у плодах розторопші плямистої (флавоноїд силімарин і його головний ізомер — силібін), зумовлюють гепатопротекторну, жовчогінну, мембраностабілізуючу дії препарату, а саме: нормалізують обмінні процеси у печінці, підвищують стійкість гепатоцитів, знижуючи сприйнятливості клітин до багатьох шкідливих впливів за рахунок блокування транспортних систем, які сприяють переносу токсичних речовин через мембрану [10, 11]. Силібін підвищує концентрацію антиоксидантів і опірність організму під час захворювань, які супроводжуються оксидативними пошкодженнями. Лікування силібініном асоційоване із захистом від токсинів [12]. Також флавоноїди розторопші стимулюють синтез білків і підтримують процес регенерації гепатоцитів [13], секреторну та рухову функції шлунково-кишкового тракту [14].

На підставі результатів експериментальних робіт з використанням тетрахлорметану, атофану та тетрацикліну дослідниками визначено, що додавання до раціону риб розмелених плодів розторопші плямистої за дози 25 мг/кг корму сприяє зменшенню явища цитолізу, концентрації ТБК-активних продуктів, холестерину та нормалізації рівня відновленого глутатіону, до того ж більш активно, ніж фармпрепарат [15, 16].

До теперішнього часу доступна обмежена інформація відносно використання розторопші плямистої та біологічно активних речовин у її складі як у ветеринарній медицині, так і у рибництві. Тому дослідження з визначення доз, кінетики та ефектів використання розторопші плямистої з метою підвищення імунного потенціалу та життєздатності риб є доцільним та актуальним.



Мета досліджень полягала у з'ясуванні впливу введення до складу основного раціону дволіток коропа різної кількості насіння розторопші плямистої на стан Т- і В-клітинного імунітету та показники природної резистентності організму.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводились на базі ДП «ДГ Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН». Об'єктом дослідження були дволітки любінського лускатого коропа (*Cyprinus carpio* L.). Контрольна група складала 225 особин і утримувалася у ставу площею 0,15 га. Перша дослідна група (Дослід 1) налічувала 210 екз. і утримувалася у ставу площею 0,14 га; друга дослідна група (Дослід 2) складала 165 екз. і утримувалася у ставу площею 0,11 га. Риби контрольної групи споживали збалансований комбікорм рецепту № ПК АВО МІКС-100 без добавок. Коропам дослідних груп (Дослід 1 і Дослід 2) до складу вказаного комбікорму методом гранулювання додатково вводили розмелені плоди розторопші плямистої в кількості 1 і 5% відповідно. Після завершення вегетаційного періоду було здійснено вилов риби та відібрано зразки для проведення імунологічних досліджень. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» [17].

Матеріалом для імунологічних досліджень слугувала кров, яку брали безпосередньо з серця риб. Досліджували кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональну активність, а також показники природної резистентності: фагоцитарну активність гранулоцитів та бактерицидну і лізоцимну активності сироватки крові [18, 19].

Лімфоцити виділяли зі стабілізованої гепарином крові у градієнті фіколоворографіну ( $\rho=1,077$  г/мл). Загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-ПУЛ) визначали в реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами вівці, їх субпопуляції — Т-хелпери (Th-ПУЛ); кількість «активних» Т-лімфоцитів (ТА-ПУЛ); кількість Т-клітин із переважно супресорною активністю (Ts-ПУЛ) — відніманням кількості теофілін — резистентних Т-клітин від загальної кількості Т-лімфоцитів. Диференціювали лімфоцити на нульові, низькоавідні, середньоавідні та високоавідні. Показники фагоцитозу гранулоцитів крові оцінювали за фагоцитарною активністю (ФА), фагоцитарним числом (ФЧ) та фагоцитарним індексом (ФІ). Лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) визначали за реакцією на мікробну тест-культуру *Micrococcus lysodeikticus* фотонейлометричним методом. При визначенні бактерицидної активності (БАСК) в якості тест-мікроба використовували *Aeromonas hydrophila*. Виконання вказаних методик проводили у відповідності до рекомендацій, описаних В. Р. Мікряковим [20].

Опрацювання результатів досліджень проводили методом варіаційної статистики. Статистично вірогідну різницю показників оцінювали за t-критерієм Стьюдента [21].

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що для оцінки резистентності риб до захворювань використовують різноманітні методичні прийоми аналізу структурно-функціонального стану імунної системи. Одним з таких є дослідження кількості і функціональної



активності Т- і В-лімфоцитів крові та їхніх регуляторних субпопуляцій [22, 23].

З наведених у таблиці 1 даних бачимо, що кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) у крові коропів Досліді 2 вірогідно менша, ніж в особин контрольної групи. При дослідженні рецепторного апарату імунокомпетентних клітин в особин цієї групи необхідно зауважити, що кількість вказаних популяцій Т-лімфоцитів з високою і середньою щільністю рецепторів була меншою ( $p < 0,05-0,001$ ), а «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні — більшою ( $p < 0,05-0,001$ ), ніж у контролі. Водночас у крові коропів Досліді 1, яким додатково до основного раціону вводили 1% розторопші плямистої, вірогідних змін у кількості вказаних популяцій Т-лімфоцитів відносно контролю не зафіксовано. При цьому виявлено тенденцію до збільшення кількості високоавідних Т-лімфоцитів (загальних і активних). Таким чином результати проведених досліджень свідчать, що застосування в годівлі дволіток коропа розмелених плодів розторопші плямистої упродовж вегетаційного періоду спричиняє дозозалежний вплив на кількість Т-лімфоцитів та їхню функціональну активність.

При дослідженні В-клітинної ланки специфічного захисту організму риб звертає на себе увагу вірогідне зростання кількості високоавідних субпопуляцій В-лімфоцитів у крові коропів обох дослідних груп відносно контрольної. При цьому зафіксовано тенденцію до збільшення у крові загальної кількості В-лімфоцитів у коропів Досліді 2 і середньоавідних ЕАС-РУЛ. В-лімфоцити — попередники клітин, що є продуцентами антитіл; відповідно, збільшення їхньої кількості у крові коропів Досліді 2 є ознакою зростання здатності організму до активного синтезу захисних антитіл.

При цьому імунорегуляторний індекс, який визначає співвідношення субпопуляційного складу Т-лімфоцитарної ланки клітинного імунітету і опосередковано характеризує фазу імунної відповіді організму, знижується в Досліді 1 і Досліді 2 на 20,8 і 23,6% відповідно. Тобто знижується кількість Т-хелперів і зростає Т-супресорів у крові коропів дослідних груп, що може свідчити про супресивну спрямованість імунних реакцій.

Отже, при проведенні досліджень встановлено, що застосування у складі комбікорму для дволіток коропа розмелених плодів розторопші плямистої упродовж вегетаційного періоду спричиняє дозозалежний вплив на клітинну ланку специфічного імунітету. Зокрема, констатовано імуносупресивний вплив досліджуваної добавки за умов використання в кількості 5% у складі комбікорму і активуючий — в кількості 1%. Застосування у складі раціону для коропів 1% розторопші плямистої зумовлює збільшення на поверхні Т- і В-лімфоцитів кількості рецепторів, здатних взаємодіяти з більшою кількістю антигенних детермінант, внаслідок чого зростає функціональна активність імунної відповіді організму [24]. Підвищення функціональної активності Т- і В-лімфоцитів у крові коропів, очевидно, можна пояснити як прямим, так і опосередкованим впливом 1% розторопші плямистої у складі комбікорму на експресію Т- і В-лімфоцитів на плазматичні мембрани.

Таблиця 1. Кількість Т- і В-лімфоцитів та їхня функціональна активність



у крові дволіток коропа за впливу розторопші плямистої ( $M \pm m, n = 4$ )

Table 1. The number of T- and B-lymphocytes and their functional activity in the blood of two-year-old carp when exposed to milk thistle ( $M \pm m, n = 4$ )

Показники / Indicators	Контроль / Control	Дослід 1 / Experiment 1	Дослід 2 / Experiment 2	
Т-активні А-РУЛ / T-active A-RUL	0	71,5 ± 1,23	70,8 ± 1,40	76,0 ± 0,36***
	3-5	18,5 ± 1,36	15,5 ± 0,67	21,2 ± 0,49
	6-10	7,0 ± 1,29	7,7 ± 0,56	2,7 ± 0,42***
	M	4,0 ± 0,63	6,0 ± 0,89	0,0
	%	28,5 ± 1,23	29,2 ± 1,40	24,0 ± 0,36***
Т-загальні Е-РУЛ / T-total E-RUL	0	52,0 ± 1,57	51,0 ± 1,46	55,7 ± 0,49*
	3-5	28,5 ± 2,63	26,8 ± 3,66	31,0 ± 0,36
	6-10	13,2 ± 1,56	13,0 ± 1,0	9,5 ± 0,43*
	M	6,3 ± 1,28	9,2 ± 1,96	3,8 ± 0,48
Т-РУЛ / T-RUL	%	48,0 ± 1,57	49,0 ± 1,46	44,3 ± 0,49*
	0	70,8 ± 1,40	69,8 ± 0,60	74,5 ± 0,50*
	3-5	18,7 ± 1,41	20,5 ± 1,31	21,5 ± 0,43
	6-10	6,7 ± 0,76	5,8 ± 0,60	4,0 ± 0,45**
Т-супресори / suppressor- cytotoxic T cells	M	3,8 ± 0,17	2,83 ± 0,65	0,0
	%	29,2 ± 1,40	28,2 ± 0,60	25,5 ± 0,50*
Імунорегуляторний індекс (Т-хелпери / Т-супресори) /Immunoregulatory index (helper-suppressor cell ratio)	%	18,8 ± 2,50	20,8 ± 1,66	18,8 ± 0,31
	од.	1,78 ± 0,368	1,41 ± 0,137**	1,36 ± 0,040**
В-РУЛ / B-RUL	0	58,5 ± 0,99	57,5 ± 0,99	56,2 ± 0,40
	3-5	31,2 ± 0,70	29,3 ± 0,76	31,2 ± 0,30
	6-10	7,8 ± 1,28	8,8 ± 0,87	8,0 ± 0,63
	M	2,5 ± 0,41	4,7 ± 0,71*	4,3 ± 0,56*
	%	41,5 ± 0,99	41,5 ± 0,99	43,8 ± 0,40

Примітка. У цій і наступній таблиці різниця статистично вірогідна порівняно з контрольною групою: \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$ .

Note. In this and the following table, the difference is statistically significant compared to the control group: \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$ .

Відомо, що імунна система риб, як і вищих хребетних, забезпечує саморегуляцію за допомогою безпосереднього контакту клітин, а також за участю специфічних та неспецифічних факторів захисту. Неспецифічні механізми захисту мають значно більший діапазон функцій і використовуються для знешкодження навіть тих чужорідних тіл, із якими організм взагалі не



контактував [25]. До неспецифічних факторів захисту відносять фагоцитоз лейкоцитів [25], неспецифічні цитотоксичні клітини [26]. Водночас, у риб виявлено низку філогенетично закріплених неспецифічних гуморальних факторів, які мають протимікробну дію: лізоцим, фібриноген, бактерицидна активність сироватки крові [7].

Одним із важливих чинників природної резистентності організму, який має властивість піддавати лізису клітини мікроорганізмів, які потрапляють в організм, є лізоцим. Даний ензим з одного боку, може розщеплювати полісахариди, а з іншого — мобілізувати інші неспецифічні чинники захисту [7]. Як бачимо з даних, наведених у таблиці 2, у коропів Дослід 1 і Дослід 2 лізоцимна активність сироватки крові була відповідно на 8,2 ( $p < 0,001$ ) і 5,7% ( $p < 0,001$ ) вищою, ніж у контролі. При цьому, у коропів Дослід 1 виявлено тенденцію до зростання іншого важливого інтегрального показника природної резистентності — бактерицидної активності сироватки крові. Відомо, що даний показник пов'язаний з наявністю у сироватці крові компонентів, що знешкоджують і розчиняють мікробні клітини [27]. Зростання бактерицидної активності сироватки крові у коропів за використання 1% розторопші плямистої у складі комбікорму можна пояснити адитивною дією компонентів цієї рослини у підвищенні функціональної активності клітин крові, відповідальних за продукцію опсонізуючих факторів, а також посиленням кооперативної взаємодії клітинних компонентів імунної системи.

**Таблиця 2. Показники неспецифічної резистентності організму дволіток коропа за впливу розторопші плямистої ( $M \pm m, n = 4$ )**

**Table 2. Indicators of two-year-old carp organism nonspecific resistance when exposed to milk thistle ( $M \pm m, n = 4$ )**

Показники / Indicators	Контроль / Control	Дослід 1 / Experiment 1	Дослід 2 / Experiment 2
Лізоцимна активність,% / Lysozyme activity,%	35,3 ± 0,67	43,5 ± 0,56***	41,0 ± 0,97***
Бактерицидна активність,% / Bactericidal activity,%	48,8 ± 3,04	53,3 ± 3,65	43,4 ± 4,10
Фагоцитарна активність,% / Phagocytic activity,%	34,5 ± 1,41	43,3 ± 0,80***	43,7 ± 1,05***
Фагоцитарний індекс, од. / Phagocytic index, units	7,80 ± 0,25	7,12 ± 0,27	6,99 ± 0,27
Фагоцитарне число, од. / Phagocytic number, units	2,70 ± 0,161	3,23 ± 0,12*	3,05 ± 0,11

При дослідженні показників, що характеризують клітинну ланку природної резистентності звертають на себе увагу вищі показники фагоцитозу гранулоцитів крові у коропів дослідних груп відносно контрольної. Зокрема, фагоцитарна активність нейтрофілів крові коропів Дослід 1 і Дослід 2 була відповідно на 8,8 ( $p < 0,001$ ) і 9,2% ( $p < 0,001$ ) вищою, ніж у контролі (табл. 2). При цьому фагоцитарний індекс, який характеризує кількість захоплених мікроорганізмів одним активним фагоцитом, у крові коропів дослідних груп був на рівні контрольного, а фагоцитарне число, що вказує на кількість фагоцитованих





мікробних клітин на 100 підрахованих лейкоцитів, було на 19,6% ( $p < 0,05$ ) вищим у риб Досліді 1.

Загалом, отримані результати досліджень свідчать, що згодовування розмелених плодів розторопші плямистої у складі комбікорму для дволіток коропа впродовж вегетаційного періоду спричиняє дозозалежний вплив на функціонування механізмів природного й адаптивного імунного захисту риб.

### ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Введення насіння розторопші плямистої у кількості 5% до складу раціону дволіток коропа зменшувало кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) та спричиняло імуносупресивний вплив на їхню функціональну активність. Натомість, введення до складу комбікорму даної рослинної добавки у кількості 1% викликало тенденцію до збільшення кількості вказаних популяцій Т-лімфоцитів крові і підвищення їхньої функціональної активності, що свідчить про дозозалежний її вплив на активність Т- і В-клітинної ланок специфічного захисту риб. Констатовано вищий потенціал природних факторів захисту в організмі коропів, яким згодовували комбікорм з добавкою розмелених плодів розторопші плямистої у кількості 1%.

У подальшому дослідження будуть присвячені поглибленому вивченню впливу розторопші плямистої на організм різновікових груп коропа, відповідно до спектру її біологічно активних властивостей. Буде визначено ефективність та здійснено порівняльний аналіз використання даної рослинної добавки в годівлі коропа за різних умов вирощування.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Секретарюк К. В., Стрижак О. І., Лобойко Ю. В. Вплив основних гідрохімічних показників на організм вирощуваних риб // Сільський господар. 2003. № 9–10. С. 29–30.
2. Zelikoff J. T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals // Toxicology. 1998. Vol. 1. P. 63–71.
3. Bubanovic I. V. Crossroads of extrathymic lymphocytes maturation pathways // Med. Hypotheses. 2003. Vol. 2. P. 235–239.
4. Echinoderm immunity and evolution of the complement system / Gross P. S. et al. Developmental & Comparative Immunology. 1999. Vol. 23. P. 429–442.
5. Иванов А. А. Физиология рыб. Москва : Мир, 2003. 280 с.
6. Ecotoxicology and innate immunity in fish / Bols N. C. et al. // Developmental & Comparative Immunology. 2001. Vol. 25. P. 853–873.
7. Кондратьева И. А., Киташова А. А., Ланге М. А. Современные представления об иммунной системе рыб. Организация иммунной системы рыб // Вестн. Моск. ун-та. 2001. № 4. С. 11–23. (Серия : Биология).
8. Доклиническое изучение безопасности фитопрепаратов, обладающих гепатопротекторными свойствами / Крепова Л. В. и др. // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения : 8 Междунар. съезд «Фитофарм 2004», 21-23 июня 2004 г. : матер. Санкт-Петербург, 2004. С. 111–114.
9. Никиткина А. К., Гущина В. А., Агапкина Н. Д. Расторопша пятнистая. Пенза : Пензенская гос. с-х. акад., 2003.



10. Münter K., Mayer D., Faulstich H. Characterization of a transporting system in rat hepatocytes. Studies with competitive and non-competitive inhibitors of phalloidin transport // *Biochimica & Biophysica Acta*. 1986. Vol. 860 (1). P. 91—98.
11. Особливості хімічного складу розторопші плямистої / Колесник М. Д. та ін. // Вісник Полтавської державної академії. 2007. № 1. С. 93—95.
12. Pradhan S. C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine // *Indian J. Med. Res.* 2006. Vol. 124 (5). P. 491—504.
13. Sonnenbichler J., Zetl I. Biochemical effects of the flavonolignane silibinin on RNA, protein and DNA synthesis in rat livers // *Prog. Clin. Biol. Res.* 1986. Vol. 213. P. 319—331.
14. Дослідження впливу нових лікарських препаратів на функціональний стан шлунково-кишкового тракту / Геруш О. В. та ін. // Клінічна фармація. 2017. № 1. С. 45—49.
15. Yagi K. Active oxygens, lipid peroxides, and antioxidants. Tokyo : Japan Scientific Societies Press ; New York : CRC Press, 1993. P. 289—298.
16. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems / Alicia E. et al. // *Aquaculture*. 2005. Vol. 246. P. 37—61.
17. European Commission. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. URL: : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF> (accessed 01.08.2019).
18. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. Москва : Легкая и пищевая промышленность, 1983. 184 с.
19. Ecotoxicology and innate immunity in fish / Bols N. C. et al. // *Developmental and Comparative Immunol.* 2001. Vol. 25. P. 853—873.
20. Микряков В. Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб Рыбинск : ИБВВ РАН, 1991. 153 с.
21. Айвазян С. А., Енюков И. С., Мешалкин Л. Д. Прикладная статистика. Основы моделирования и первичной обработки данных. Москва : Финансы и статистика, 1983. 471 с.
22. Immunotoxicology of amphibians / Fournier M. et al. // *Applied Herpetology*. 2005. Vol. 2. P. 297—309.
23. Blood parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) kept in heated water culture at different feeding regimes / Serpunin G. G. et al. // *Acta scientiarum Polonorum*. 2002. Vol. 1(2). P. 121—128.
24. Дранник Г. П. Клиническая иммунология и аллергология. Одесса : Астропринт, 1999. 604 с.
25. Secomber C. J. The nonspecific immune system: cellular defences // *The fish immune system : Fish physiology series*. 1996. Vol. 15. P. 63—103.
26. Biochemistry and molecular biology of fishes : Metabolic biochemistry. Vol. 4 / eds. Hochachka P. W., Mommsen T. P. Amsterdam : Elsevier Science, 1995.
27. Маслянюк Р. П. Основы імунології. Львів : Вертикаль, 1999. 472 с.

## REFERENCES



1. Sekretariuk, K. V., Stryzhak, O. I., & Loboiko, Yu. V. (2003). Vplyv osnovnykh hidrokhimichnykh pokaznykiv na orhanizm vyroshchuvanykh ryb. *Sil'skyi hospodar*, 9-10, 29-30.
2. Zelikoff, J. T. (1998). Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals. *Toxicology*, 1, 63-71.
3. Bubanovic, I. V. (2003). Crossroads of extrathymic lymphocytes maturation pathways. *Med. Hypotheses*, 2, 235-239.
4. Gross, P. S., Al-Sharif, W. Z., Clow, L. A., & Smith, L. C. (1999). Echinoderm immunity and evolution of the complement system. *Developmental & Comparative Immunology*, 23, 429-442.
5. Ivanov, A. A. (2003). *Fiziologiya ryb*. Moskva: Mir.
6. Bols, N. C., Brubacher, J. L., Ganassin, R. C., & Lee, E. J. (2001). Ecotoxicology and innate immunity in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25, 853-873.
7. Kondrat'eva, I. A., Kitashova, A. A., & Lange, M. A. (2001). Sovremennye predstavleniya ob immunnoy sisteme ryb. Organizatsiya immunnoy sistemy ryb. *Vestn. Mosk. un-ta. Seriya Biologiya*, 4, 11-23.
8. Krepova, L. V., Bortnikova, V. V., & Shkarenko, A. A. (2004). Doklinicheskoe izuchenie bezopasnosti fitopreparatov, obladayushchikh gepatoprotekturnymi svoystvami. *Aktual'nye problemy sozdaniya novykh lekarstvennykh preparatov prirodnoho proiskhozhdeniya : Materialy 8 Mezhdunar. S"ezda «Fitofarm 2004»*. Sankt-Peterburg, 111-114.
9. Nikitkina, A. K., Gushchina, V. A., & Agapkina N. D. (2003). *Rastoropsha pyatnistaya*. Penza: Penzenskaya gos. s-kh. akad.
10. Münter, K., Mayer, D., & Faulstich H. (1986). Characterization of a transporting system in rat hepatocytes. Studies with competitive and non-competitive inhibitors of phalloidin transport. *Biochimica & Biophysica Acta*, 860 (1), 91-98.
11. Kolesnyk, M. D., Semenov, S. O., Bankovska, I. B., & Trotskyi, M. Ia. (2007). Osoblyvosti khimichnoho skladu roztoropshi pliamystoi. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi akademii*, 1, 93-95.
12. Pradhan, S. C., & Girish, C. (2006). Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian. J. Med. Res*, 124 (5), 491-504.
13. Sonnenbichler, J., & Zetl, I. (1986). Biochemical effects of the flavonolignane silibinin on RNA, protein and DNA synthesis in rat livers. *Prog. Clin. Biol. Res*, 213, 319-331.
14. Herush, O. V., Yakovlieva, L. V., Spyrydonov, S. V., & Hrashchenkova, S. A. (2017). Doslidzhennia vplyvu novykh likarskykh preparativ na funktsionalnyi stan shlunkovo-kyshkovoho traktu. *Klinichna farmatsiia*, 1, 45-49.
15. Yagi, K. (1993). Active oxygens, lipid peroxides, and antioxidants. *Japan Scientific Societies Press Tokyo. New York: CRC Press*, 289-298.
16. Alicia, E., Toranzo, T., Magarin, O. S. B., & Romalde, J. L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246, 37-61.
17. European Commission. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>.



18. Ivanova, N. T. (1983). *Atlas kletok krovi ryb. Sravnitel'naya morfologiya i klassifikatsiya formennykh elementov krovi ryb*. Moskva: Legkaya i pishchevaya promyshlennost'.
19. Bols, N. C., Brubacher, J. L., Ganassin, R. C., & Lee, L. E. J. (2001). Ecotoxicology and innate immunity in fish. *Developmental and Comparative Immunol*, 25, 853-873.
20. Mikryakov, V. R. (1991). *Zakonomernosti formirovaniya priobretennogo immuniteta u ryb*. Rybinsk: IBVV RAN.
21. Ayvazyan, S. A., Enyukov, I. S., & Meshalkin, L. D. (1983). *Prikladnaya statistika. Osnovy modelirovaniya i pervichnoy obrobotki dannyakh*. Moskva: Finansy i statistikka.
22. Fournier, M., Salo Robert, H. M., Dautremepuits, C., & Brousseau, P. (2005). Immunotoxicology of amphibians. *Applied Herpetology*, 2, 297—309.
23. Serpunin, G. G., Lihaceva, O. A., Trzebiatowski, R., Sadowski, J., & Odebralska, D. (2002). Blood parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) kept in heated water culture at different feeding regimes. *Acta scientiarum polonorum*, 1(2), 121-128.
24. Drannik, G. P. (1999). *Klinicheskaya immunologiya i alergologiya*. Odessa: Astroprint.
25. Secomber, C. J. (1996). The nonspecific immune system: cellular defences. *The fish immune system. Fish Physiology series*, 15, 63-103.
26. Hochachka, P. W., & Mommsen, T. P. (Ed.). (1995). *Biochemistry and molecular biology of fishes. Metabolic biochemistry*. (Vol. 4). Amsterdam: Elsevier Science.
27. Maslianko, R. P. (1999). *Osnovy imunologii*. Lviv: Vertykal.

